



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Académico Profesional de Genética y Biotecnología

**Clonamiento y expresión de la proteína recombinante
homóloga a catepsina I del metacéstodo de *Taenia
solium***

TESIS

Para optar el Título Profesional de Bióloga Genetista
Biotecnóloga

AUTOR

Nancy LEÓN JANAMPA

ASESORES

Miguel Ángel Francisco TALLEDO RIVERA

Patricia SHEEN CORTAVARRÍA

Lima, Perú

2012

RESUMEN

Taenia solium es un céstodo de vida parásita, cosmopolita y tiene como hospedero definitivo al hombre. Estos helmintos aplanados son los responsables de infestaciones frecuentes en zonas endémicas en América Latina, Asia y África, así como en naciones desarrolladas con flujo masivo de inmigrantes provenientes de áreas endémicas. La teniosis se produce cuando el hombre consume las larvas (cisticercos) de *Taenia solium*, mientras que la cisticercosis es causada por el consumo de los huevos. Estos últimos se desarrollan hasta cisticerco en diferentes tejidos, principalmente en el sistema nervioso central, causando la neurocisticercosis, la que se caracteriza por lesiones y diferencias en la respuesta inmunológica del huésped frente al parásito. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son epilepsia, signos neurológicos de focalización, hipertensión endocraneal y deterioro cognitivo. En estudios realizados a partir de fluido de cisticerco se reportaron proteínas antigénicas importantes como la cisteín proteasa homóloga a catepsina L, la cual interviene en la invasividad del cisticerco, desde el tracto digestivo del hospedero hasta el músculo y sistema nervioso, a través del torrente sanguíneo.

En el presente trabajo, se ha identificado el gen de una proteína similar a Catepsina L de cisticerco a partir del genoma de *T. solium*, secuenciado en el laboratorio de Bioinformática y Biología Molecular (UPCH). La región codificante madura de la secuencia homóloga a Catepsina L fue de 633 nt, esta secuencia fue clonada y expresada en el vector pET28a; la proteína expresada de 22.3 kDa se encontró en el sedimento del lisado celular de *Escherichia coli* BL21 (DE3), sistema procariótico de expresión, lo cual indica que fue insoluble. Con el propósito de obtener la proteína soluble, se estandarizó la temperatura de crecimiento bacteriano, el tiempo de inducción y la concentración de IPTG, pero no fue posible lograrlo, posiblemente por las glicosilaciones postraduccionales que presenta esta proteína, y que que las bacterias no pueden realizar.

Palabras clave: Catepsina L, neurocisticercosis, clonamiento, metacéstodo de *Taenia solium*, expresión de proteínas recombinantes.

ABSTRACT

Taenia solium is a tapeworm of parasitic life, cosmopolitan and the man is your definitive host. These tapeworms are responsible for frequently infestations in endemic place from Latin America, Asia and Africa, as well as in developed nations with massive immigration influx from endemic areas. The taeniosis occurs when humans eat the larvae (cysticerci) and cysticercosis by eating eggs, the latter develop into cysticerci in different tissues, mainly in the central nervous system, causing neurocysticercosis, which is characterized by lesions and the differences in host immune response against the parasite. Epilepsy is the most frequent clinical manifestations, focal neurological signs, intracranial hypertension and cognitive impairment. In previous studies, the cysticercus fluid is reported as the major antigenic proteins homologous. The cysteine protease cathepsin L are important for the cysticerci invasiveness to the muscle and nervous system through the bloodstream.

In this work, a protein cathepsin L-like of cysticercus was annotated from a draft genome of *T. solium* sequenced in Bioinformatics and Molecular Biology Laboratory (UPCH). Mature coding region of sequence cathepsin L homologous was 633 nt, this sequence was cloned and expressed in the pET28a vector; the 23 kDa expressed protein was found in the cell lysate pellet *Escherichia coli* BL21 (prokaryotic expression system). The temperature of bacterial growth, the time of induction and IPTG concentration was standardized in order to obtained soluble protein, but this purpose has not been achieved, it could be explained by post-translation glycosylations in these proteins, that this bacteria can't make.

Keywords: Cathepsin L, neurocysticercosis, cloning, *Taenia solium* metacestode, recombinant protein expression.